

Title	Radio-sensitization of the Murine Osteosarcoma Cell Line LM8 with Parthenolide, a Natural Inhibitor of NF- $\kappa$ B
Author(s)	杉安, 謙仁朗
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58173">https://hdl.handle.net/11094/58173</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照</a> ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	すぎ 杉 やす 安 けん 謙 じ 仁 しょう 朗
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 4 4 2 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 23 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Radio-sensitization of the Murine Osteosarcoma Cell Line LM8 with Parthenolide, a Natural Inhibitor of NF- $\kappa$ B (NF $\kappa$ B阻害剤パルテノライドによるマウス骨肉腫LM8の放射線感受性増強実験)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉川 秀樹 (副査) 教 授 野々村祝夫 教 授 野口眞三郎

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔 目 的 〕

はじめに、骨肉腫は若年者で最も多い悪性骨腫瘍であるが、高い放射線抵抗性を示すため、その治療法は手術および化学療法に限られている。放射線治療は悪性腫瘍の局所コントロールにおける有効な治療法であるが、腫瘍の放射線抵抗性や照射量による副作用、耐容線量の存在等の問題となる。そのため、放射線量を抑えてその効果を増大する目的で感受性を高める薬剤の開発がなされてきたが、肉腫に有効な放射線増感剤がなく、薬剤の開拓が必要とされている。NF $\kappa$ Bは転写因子として働くタンパク質複合体であり、種々の悪性腫瘍で高発現している。NF $\kappa$ Bを活性化する因子は多数存在し、放射線によるDNA損傷もその1つである。さらにNF $\kappa$ Bの活性化は抗がん剤抵抗性や放射線抵抗性を増大することが報告されている。以上から、悪性腫瘍が放射線抵抗性を示す要因の一つにNF $\kappa$ Bの活性化が関与していると考えられている。パルテノライドは、ハーブの一種ナツシロギクの葉に含まれている成分で、副作用がなく、偏頭痛に有効であることからヨーロッパでは古くから使用されているサプリメントである。また、天然のNF $\kappa$ B inhibitor であり、NF $\kappa$ B作用を阻害することで抗癌剤感受性を上げることがすでに多く報告されている。その一方でパルテノライドと癌細胞放射線感受性については*In Vitro*での報告が数例あるのみである。本研究の目的はパルテノライドによる放射線感受性増強効果をNF $\kappa$ Bが恒常的に活性化しているマウス骨肉腫細胞株LM8を用いて*In Vitro*, *In Vivo*で検討することである。

### 〔 方法ならびに成績 〕

NF $\kappa$ B活性を定量的に評価する目的でNF $\kappa$ B結合部を上流に持ち、その活性を測定できるNF $\kappa$ B-Luciferase reporter constructをLM8細胞に遺伝子導入し安定株（以後Luc-LM8とする）を作成した。パルテノライド存在下にこのLuc-LM8を培養し、ルシフェラーゼアッセイを行ない、NF $\kappa$ B活性を評価したところ、容量依存性にNF $\kappa$ B活性の低下を認めた。また、Luc-LM8をC3Hマウスの右大腿皮下に移植し、接種全例で生着をみとめ、肺観察例すべてにおいて肺転移を確認した。以上より、LM8の肺転移能を失うことなく、腫瘍中のNF- $\kappa$ Bを定量できるモデルを確立できたと判断した。Luc-LM8細胞に対してパルテノライド存在下に2、4、6Gyの放射線一括照射を行い、WST-1アッセイを施行していずれにおいても非投与コントロール群と比較し優位に細胞増殖能が低下することを認めた。RT後のアポトーシスについてAnnexin VによるApoptosis detection assayを行い、0、2、8Gy照射の各群でパルテノライド投与下でアポトーシスの割合が優位に増加していた。次に、*In Vivo*にてパルテノライド投与による腫瘍内のNF $\kappa$ B活性の評価、RT 後の腫瘍体積の経時

的評価 (tumor growth assay)を行った。腫瘍内のNF $\kappa$ B活性は容量依存性に低下傾向を認め、腫瘍体積はパルテノライド、放射線の併用群で有意に成長速度の低下を認めた。腫瘍組織のHE染色はコントロールではほとんど組織変性が見られないのに対し、パルテノライド、RT単独使用群で変性を認め、併用ではさらに広範囲にアポトーシスによると思われる変性を認める傾向であった。

### 〔 総 括 〕

*In vitro*においてパルテノライドはLuc-LM8のNF $\kappa$ B活性を低下させ、放射線感受性を増強することで腫瘍細胞増殖能を抑制し、アポトーシスを増加させると考えられた。また、*In vivo*でも同様にLuc-LM8のNF $\kappa$ B活性を低下させることで放射線感受性を増強して腫瘍成長を抑制すると考えられた。以上より、パルテノライドは癌放射線治療の強力な放射線増感剤の有力候補であることが示唆された。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

骨肉腫は若年にもっとも多発する原発性悪性骨腫瘍であり、その治療法は高い放射線抵抗性ゆえに化

学療法を手術の併用療法が主である。NF $\kappa$ Bは種々の腫瘍で高発現しその放射線抵抗性を増強する。一

方、ハーブの成分であるバルセノライドはNF $\kappa$ Bの作用を阻害することが報告されている。本実験では

NF $\kappa$ B -Luciferase reporter constructをマウス骨肉腫LM8細胞に遺伝子導入した安定株Luc-LM8を用いバ

ルセノライドと放射線療法を併用することで放射線感受性が増強されるかどうかについて検討した。

Luc-LM8細胞に対してバルセノライド存在下に放射線照射を行い細胞増殖能とアポトーシスを評価

し、*In vivo*で放射線感受性を調べるために*Tumor Growth Assay*を、バルセノライドと放射線の併用が生

命予後に影響を及ぼすかを調べるために*Survival Assay* を施行した。*In vitro*においてバルセノライドは

Luc-LM8のNF $\kappa$ B活性を抑制し放射線感受性を増強することが示唆された。また、*In vivo*においても

NF $\kappa$ B活性は抑制され、バルセノライドと放射線の併用により腫瘍の成長が有意に抑制された。以上の

結果よりバルセノライドが骨肉腫放射線治療における放射線増感剤として今後の医療に有望であるこ

とが示めされたという点で本研究は学位に値すると考える。